Das Glycosid der Cacaosamen.

Ein Beitrag
zur
Entstehung der schon längst bekannten
Cacaosamen-Bestandteile

(aus dem Laboratorium für angewandte Chemie der Universität zu Erlangen).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

Wilhelm Lazarus

aus Neuss (Preussen).

1892.

Druck von L. Schwann in Düsseldorf.

Das Glycosid der Cacaosamen.

Ein Beitrag
zur
Entstehung der schon längst bekannten
Cacaosamen-Bestandteile
(aus dem Laboratorium für angewandte Chemie der Universität zu Erlangen).

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der

Hohen philosophischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

Wilhelm Lazarus
aus Neuss (Preussen).

Druck von L. Schwann in Düsseldorf.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535708_0169

Die Cacaobohnen sind die Samen verschiedener Species der Gattung Theobroma, wie Theobroma Cacao, Theobroma bicolor, Theobroma Guajanense u. a. m., eines in Südamerika und Westindien einheimischen Baumes. Die Früchte enthalten in einer weichen pulpösen Masse die Samen; nach dem Zerschneiden der Früchte werden die Samen herausgenommen und an der Sonne getrocknet, oder man lässt sie in Haufen liegen, zuweilen bedeckt mit Erde, worauf eine Erwärmung und Gährung eintritt; durch diesen Process, das „Rotten", verlieren die Bohnen die Keimkraft, verändern aber auch Farbe und Geschmack. Man unterscheidet im Handel viele Sorten Cacaobohnen, die nach Grösse, Gestalt, Farbe und Geschmack grosse Verschiedenheiten zeigen. Die Bohnen bestehen aus den Schalen — etwa 11 Procent — und den Kernen. Die Schalen geben 5,6 Procent Asche, welche viel Kaliumcarbonat, aber wenig Kalciumphosphat und Kieselerde enthält.

Tuchen und Mitscherlich fanden für die Kerne verschiedener Cacaobohnen nachstehende Zusammensetzung:

	Guajaquil	Surinam	Caracos	Para	Maragnan	Trinidad
Theobromin . .	0,63	0,56	0,55	0,66	0,38	0,48
Cacaorot . . .	4,56	6,61	6,18	6,18	6,56	6,22
Cacaofett . . .	36,38	36,97	35,08	34,48	38,25	36,42
Kleber . . .	2,96	3,20	3,21	2,99	3,13	3,15
Stärke . . .	0,53	0,55	0,62	0,28	0,72	0,51
Schleim . . .	1,58	0,69	1,19	0,78	0,63	0,61
Extractivstoff .	3,44	4,18	6,22	6,62	3,32	5,48
Huminsäure . .	8,57	7,25	9,28	8,63	8,03	9,25
Zellstoff . . .	30,50	30,00	28,66	30,21	29,77	29,86
Asche	3,03	3,00	2,91	3,00	2,92	2,98
Wasser . . .	6,20	6,01	5,58	5,55	5,48	4,88
Stärkezucker . .	0,34	—	—	—	—	—
Rohrzucker . .	0,26	—	—	—	—	—

Rost van Tonningen erhielt von 100 Teilen Rinde 12,86, von Blättern 14,58, von der Frucht 13,34 und von den Samen 3,87 Procent Asche; diese enthielt in hundert Teilen:

	Rinde	Blätter	Frucht	Samen
Kohlensaures Kali . . .	19,5	20,1	69,7	44,4
Kohlensaures Natron . .	Spur	Spur	8,7	7,8
Kalk	11,6	14,4	3,7	1,9
Magnesia	4,5	6,2	3,2	Spur
Phosphorsäure	23,0	5,2	7,1	38,2
Chlor	0,6	0,2	0,3	0,4
Schwefelsäure	4,8	10,2	3,5	4,3
Kieselsäure	34,6	42,6	Spur	1,0

Mitscherlich fand das dem Coffein verwandte Theobromin zum Teil in mikroskopischen Krystallen in den Zellen der feinen Samenhaut und in den Falten des aus zwei Samenlappen bestehenden Kerns; Theobromin ist auch in ganz geringer Menge in den Schalen enthalten. Huminsäure und Cacaorot bedingen die Farbe, dieses und Theobromin den Geschmack der Cacaobohnen. Das Cacaorot, der Farbstoff der Bohnen, wird durch Ausziehen mit Wasser oder schwachem Alkohol, Füllen mit Bleizucker und Zersetzen des Bleiniederschlages mit Schwefelwasserstoff erhalten; es ist in Wasser und Alkohol mit roter Farbe löslich, schmeckt bitter und färbt Eisenoxydsalze grün. Die Zellen der Samenlappen selbst sind teilweise mit einem Pigment gefüllt, welches bei den gerotteten Bohnen meist trübe rotbraun, bei den ungerotteten klar durchscheinend violett, zuweilen auch carmoisinrot oder dunkelblau ist. Hierdurch lassen sich diese von jenen unterscheiden. Durch Kochen mit Natronlauge wird das Pigment völlig farblos, dagegen sieht man viele Zellen nun mehr mit Öltropfen gefüllt, die auch schon durch Kochen mit blossem Wasser sichtbar werden.

Auf Veranlassung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Hofrat Professor Dr. Hilger, beschäftigte ich mich mit dem Cacaorot, zumal gestützt auf die interessanten Versuche, die zur Zeit Herr Dr. Knebel im hiesigen Laboratorium mit dem Kolarot,

einem Bestandteile der Kolanuss, angestellt hatte. Es wurde nämlich nachgewiesen, dass der bisher mit dem Namen Kolarot bezeichnete Körper ein Glycosid war, das durch Einwirkung von Fermenten oder verdünnten Säuren einerseits in Coffein, andererseits in Glycose und in den eigentlichen Farbstoff, das Kolarot, gespalten wurde. Es lag nun die Vermutung nahe, dass Coffein und Theobromin enthaltende Droguen jene Körper durch Spaltung eines Glycosides lieferten und ist auch hierauf der wechselnde Gehalt an Coffein und Theobromin mit grosser Wahrscheinlichkeit zurückzuführen, da bisweilen ein grösserer oder geringerer Teil des Glycosides ungespalten zurückbleibt.

Zu den Vorversuchen wurden aus ca. 250,0 Cacaopulvers Auszüge zunächst mit Petroleumäther, dann Wasser und zuletzt mit 90 % Alkohol gemacht. Während der Petroleumäther das Fett und geringe Mengen von Theobromin, das Wasser das übrige Theobromin, den Zucker und die Salze löste, ging in den Alkohol der bisher mit dem Namen Cacaorot belegte Körper in Lösung. Aus dieser rotbraun gefärbten Lösung wurde der Alkohol durch Destillation getrennt und der Rückstand möglichst schnell auf Bisquittellern über Schwefelsäure getrocknet. Das auf diese Weise gewonnene Material war ein rotbraunes, amorphes, bitterlich schmeckendes Pulver, das in Wasser kaum löslich war, leicht dagegen in Alkohol und in verdünnten Alkalien, aus welch letzterer Lösung es durch verdünnte Säuren wieder unverändert ausgefüllt wurde. Bei der Sublimation eines Teiles desselben überzog sich das obere Uhrglas mit einer Menge feiner weisser Nadeln, die sich durch die Amalinsäurereaktion als Theobromin event. Coffein zu erkennen gaben, und thatsächlich zeigten die Schmelzpunktversuche, dass man es mit einem Gemenge von annähernd $^4/_5$ Teilen Theobromin und $^1/_5$ Coffein zu thun hatte. Den anderen Teil kochte ich mit 5 % Schwefelsäure ca. zwei Stunden am Rückflusskühler, filtrierte die intensiv rot gefärbte Lösung von dem grösstenteils ungelösten Cacaorot ab, neutralisierte mit Kaliumcarbonat und prüfte einen Teil der Lösung mit Fehling'schem Reagens, wobei eine bedeutende Reduktion eintrat; den andern Teil verdampfte ich zur Trockne, extrahierte mit Chloroform und benutzte die aus dem Chloroformauszug

zurückgebliebenen weissen Kryställchen zur Prüfung auf Theobromin event. Coffein, die sich durch die Amalinsäurereaktion als solche zu erkennen gaben. Nach diesen Vorversuchen konnte ich schon mit Sicherheit angeben, dass der bisher als Cacaorot bezeichnete Körper ein Glycosid war, das als Spaltungsprodukt einerseits Zucker, und zwar, wie ich noch nachher zeigen werde, „Glycose", andererseits Theobromin mit geringen Mengen von Coffein und drittens den eigentlichen Farbstoff, das Cacaorot liefert.

Durch gütige Vermittelung der Herren Gebrüder Stollwerck aus Köln a./Rh. erhielt ich eine grössere Auswahl sowohl gerösteter, als auch frischer Bohnen, in Weingeist aufbewahrt, von denen die letzteren zur Entscheidung der interessanten Frage von hohem Werte waren.

Zu weiteren Untersuchungen bereitete ich eine grössere Menge des Glycosides, indem ca. drei Kilo gerösteter Bohnen zunächst fein gepulvert und alsdann, wie oben angegeben, weiter behandelt wurden. Zur Reinigung des so erhaltenen Glycosides, löste ich selbiges in schwach alkalihaltigem Wasser und neutralisierte die rotbraun gefärbte Lösung mit verdünnter Schwefelsäure, wobei das Glycosid als rotbraune amorphe Masse wieder ausfiel. Letztere wurde gesammelt und so lange mit Wasser bei möglichstem Abschluss der Luft ausgewaschen, bis im Filtrate kein Zucker mehr nachzuweisen war und dann auf Bisquittellern über Phosphorsäureanhydrid getrocknet. Das Auswaschen war notwendig, da bei der Berührung mit alkalihaltigem Wasser und Luft eine geringe Spaltung des Glycosides eingetreten war. Dieses so gereinigte Glycosid benutzte ich zu Verbrennungen, zur Herstellung des Acetylcacaorotes, zur Charakterisierung der betr. Zuckerart und schliesslich zur Konstatierung, ob Theobromin und Zucker in molekularen Verhältnissen abgespalten würden.

Die Verbrennung des Glycosides ergab folgende Resultate:

C.	H.	N.	O.
52,51 %	6,05 %	3,59 %	37,85 %
52,74 %	6,16 %	3,7 %	37,40 %

der mittlere Wert davon:

C.	H.	N.	O.
52,62 %	6,10 %	3,64 %	37,64 %

dividiert durch die Atomgewichtszahlen:

C.	H.	N.	O.
4,38 %	6,10 %	0,26 %	2,35 %.

Berechnet man aus obigen Zahlenwerten die einfachste mögliche Formel, die sich durch ganze Zahlen ausdrücken lässt, so ist dies die Formel: $C_{34}\ H_{48}\ O_{18}\ N_2$.

Dass die Spaltung des Glycosides in seine Bestandteile in molekularen Gewichtsverhältnissen stattfindet, ist mit grosser Wahrscheinlichkeit anzunehmen; genau liess sich dies im gegebenen Falle nicht feststellen, da das eine Spaltungsprodukt kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von Theobromin und Coffein war; für eine Spaltung in molekularen Gewichtsverhältnissen spricht aber entschieden die Thatsache, dass die Abspaltung des Zuckers aus verschiedenen Gewichtsmengen derselben procentigen Zusammensetzung entsprach.

Zur Charakterisierung der betr. Zuckerart spaltete ich das Glycosid durch Kochen mit 5 % Schwefelsäure, neutralisierte mit Kaliumcarbonat und verdampfte zur Trockne. Aus dem Rückstande wurde das Theobromin durch Digestion mit Chloroform, der Zucker hierauf durch Behandeln mit absolutem Alkohol in Lösung gebracht. Nach Entfärbung der alkoholischen Lösung mit Bleiessig wurde der Niederschlag von der Flüssigkeit getrennt und wiederholt ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden nach dem Sättigen mit Schwefelwasserstoff vom Niederschlage durch Filtration getrennt, eingedampft und mit einer Lösung von salzsaurem Phenylhydrapin und Natriumacetat erwärmt, wobei nach kurzer Zeit gelbe Nadeln eines Osazons auskrystallisierten. Diese zeigten nach wiederholtem Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol den Schmelzpunkt bei 204°, wodurch sie sich als Glycosazon, der Zucker mithin sich als Glycose charakterisierten.

Hierauf schritt ich zur Darstellung des Acetyl- und des reinen stickstofffreien Cacaorotes. Eine Acetylierung des stickstofffreien Cacaorotes war ohne Erfolg, dagegen gelang mit Leichtigkeit die Acetylierung des stickstoffhaltigen Körpers — des Glycosides. Etwa zehn Gramm Glycosid kochte ich auf dem Wasserbade am Rückflusskühler mit ca. der zwanzigfachen

Menge Essigsäureanhydrid so lange, bis eine vollständige Lösung erzielt war und goss hierauf diese Lösung unter stetem Umrühren in eine grössere Menge Wassers. Es schied sich das Acetylprodukt als ein gelblichweisser, amorpher Körper aus, den ich auf einem Filter sammelte und bis zur neutralen Reaktion auswusch. Bemerkenswert ist, dass bei diesem Verfahren der Stickstoff abgespalten und als Theobromin event. Coffein in die wässerige Lösung ging. Zur weiteren Reinigung löste ich das Acetylderivat in Alkohol, setzte etwas Tierkohle zu und kochte einige Zeit bis zur Entfärbung. Die abfiltrierte Lösung hinterliess nach dem Verdunsten des Alkohols das Acetylcacaorot als eine gelblichweisse Masse zurück. Dieses so gereinigte Acetylderivat benutzte ich teils zur Verbrennung, teils zur Bestimmung der eingetretenen Acetylgruppen, teils zur Darstellung des reinen Cacaorotes.

Das Letztere wurde erhalten durch Abspaltung der Acetylgruppen mittelst Kalilauge durch Erwärmung und darauf folgenden Zusatz von überschüssiger Salzsäure als rotbraune Füllung, die nach dem Auswaschen und Trocknen über Schwefelsäure zu Verbrennungen diente. Die Verbrennung des stickstofffreien Cacaorotes ergab folgende Resultate:

C.	H.	O.
51,79 %	5,77 %	42,44 %
51,88 %	5,97 %	42,15 %

der mittlere Wert davon:

C.	H.	O.
51,83 %	5,87 %	42,30 %

dividirt durch die Atomgewichtszahlen:

C.	H.	O.
4,32	5,87	2,64
1,63	2,22	1

Die Bestimmung der Acetylgruppen geschah durch Verseifen einer abgewogenen Menge des Acetylderivates mit Kalilauge, Übersättigen mit Phosphorsäure, Überdestillieren der Essigsäure und Auffangen derselben in einer bestimmten Anzahl Kubikcentimeter Normal-Kalilauge, deren Überschuss alsdann mit Normal-Salzsäure zurückfiltriert wurde. So entsprach der Acetylgehalt von

0,212 Substanz 2,4 ccm einer Normal-Essigsäure; es entspricht also der Acetylgehalt von 1 gr des Acetylderivates 11,3 ccm einer Normal-Essigsäure. Ein Liter Normal-Essigsäure enthält 60,0 Essigsäure bezw. 42,0 des molekularen Differenzwertes zwischen Acetylprodukt und Hydroxylverbindung — $C_2 H_2 O$ —. 10 ccm enthalten mithin 0,6 Essigsäure bezw. 0,42 gr des Restes — $C_2 H_2 O$ —; 1 gr des Acetylproduktes entspricht 11,3 ccm Normal-Essigsäure, mithin hat es auch 0,693 gr Essigsäure bezw. 0,485 gr des $C_2 H_2 O$ Restes an die Kalilauge abgegeben.

Die Verbrennung des Acetylcacaorotes ergab folgende Resultate:

C.	H.	O.
54,9 %	5,3 %	39,8 %
55,5 %	5,12 %	39,38 %

der mittlere Wert davon:

C.	H.	O.
55,2 %	5,21 %	39,59 %

dividirt durch die Atomgewichtszahlen:

C.	H.	O.
4,6	5,21	2,47
1,86	2,11	1

Die einfachste, durch ganze Zahlen ausdrückbare Molekularformel wäre: $C_{37} H_{42} O_{20}$.

Die einfachste Formel des Acetylderivates wäre demnach: $C_{17} H_{12} (OCH_3 CO)_{10}$.

Diese kann 10 Hydroxylgruppen enthalten und hat das Molekulargewicht 806.

Die entsprechende Hydroxylverbindung hätte alsdann die Formel: $C_{17} H_{12} (OH)_{10}$ mit einem Molekulargewicht 386.

Die Differenz beträgt: 806 — 386 = 420.

Dieser Wert stimmt annähernd mit dem aus obigen Acetylbestimmungen berechneten überein.

Die kleine Differenz von 5 dürfte man von den Fehlerquellen bei der Destillation der Essigsäure herleiten.

Demnach wäre dem Cacaorot mit grosser Wahrscheinlichkeit die Formel $C_{17} H_{12} (OH)_{10}$ zuzuerteilen, zumal die aus dem

Acetylderivat berechnete Formel mit der aus den Verbrennungen des Cacaorotes ermittelten annähernd übereinstimmt.

Bei der Einwirkung von ätzenden Alkalien auf das Cacaorot erhielt ich Ameisensäure, Essigsäure und Brenzcatechin. Ich verfuhr hierbei in folgender Weise. Etwa ein Gramm Cacaorot wurden mit der zehnfachen Menge Ätzkali im Silbertimpel ca. zehn Minuten geschmolzen, die Schmelze mit Wasser aufgenommen und mit verdünnter Schwefelsäure übersättigt. In der wässerigen Lösung, die grösstenteils abdestilliert wurde, war sowohl Ameisensäure durch die Reduktion von salpetersaurer Silberlösung, als auch Essigsäure nach dem Eindampfen mit Kalihydrat durch die Cacaodylreaktion nachweisbar. Der Destillationsrückstand wurde mit Äther ausgeschüttelt, der Äther verduftet und der schmierige Rückstand der Sublimation unterworfen. An dem oberen Uhrglase setzten sich weisse Nadeln an, die nach dem Auflösen durch Eisenchloridlösung intensiv grün gefärbt wurden — Brenzcatechin. Da das Cacaorot analoge Zersetzungsprodukte den Gerbstoffen liefert, so scheint es auch zu jenen Körpern in naher Beziehung zu stehen.

Bereits im Anfange meiner Arbeit sprach ich die Vermutung aus, dass wohl bei allen Theobromin und Coffein führenden Droguen jene Körper durch Spaltung eines Glycosides gebildet würden, und in der That hat sich diese Vermutung bestätigt. Schlagend konnte ich ferner noch jene Thatsachen unter Zuhilfenahme der frischen Cacaobohnen, die weder einem Gährungs- noch Röstprocesse ausgesetzt waren, beweisen. Die Bohnen wurden aus der Fruchtschale herausgenommen, zerquetscht, zwischen Fliesspapier getrocknet und $^1/_3$ zur Isolirung des Fermentes, $^2/_3$ zur Gewinnung des Glycosides verwandt.

Zur Darstellung des Fermentes wurden ein Teil der zerriebenen und zwischen Filtrirpapier getrockneten Bohnen mit drei Teilen 20 $^0/_0$ Alkohols 24 Stunden maceriert und alsdann das abgesaugte Extrakt mit dem zweifachen Volumen absoluten Alkohols gefällt. Das ausgeschiedene Ferment wurde möglichst rasch von der Flüssigkeit getrennt und nach dem Auswaschen mit absolutem Alkohol und Äther über Schwefelsäure unter der Luftpumpe getrocknet; es blieb als eine gelblich-weisse, amorphe

Masse zurück. Die Gewinnung des Glycosides aus den frischen Bohnen geschah in analoger Weise, wie ich bei Bereitung desselben aus den gerösteten Bohnen angegeben habe. Nach der Entfettung war jedoch ein Auswaschen mit Wasser überflüssig, ich konnte also direkt nach der Entfettung mit Alkohol das Glycosid extrahieren. Das Auswaschen mit Wasser war nicht notwendig, weil im wässerigen Auszug weder Theobromin noch Zucker nachzuweisen war, ein Beweis, dass also Theobrin, Zucker und Cacaorot nicht präexistierend in den Cacaobohnen enthalten sind, sondern erst bei der Gährung infolge einer Spaltung des Glycosides durch das Ferment gebildet werden, wenn auch die Spaltung keine vollständige ist. Mit dem Fermente habe ich noch einige Versuche angestellt. Einen Teil des Fermentes setzte ich einem frisch bereiteten Stärkekleister zu; nach mehrstündigem Digerieren bei 40 bis 50 ^{0} traten mit Fehlingscher Lösung starke Zuckerreaktionen ein. Den anderen Teil des Fermentes liess ich auf das mit Wasser angeriebene Glycosid bei 40 bis 50 ^{0} einige Stunden einwirken, letzteres wurde mit Leichtigkeit in seine Componenten gespalten. Die Resultate der Verbrennung des Glycosides aus den frischen Bohnen stimmten mit den Zahlen, die das aus den gerösteten Bohnen gewonnene Glycosid geliefert, überein.

Die in Kürze mitgeteilten Resultate berechtigen zu folgenden Schlusssätzen:

1. Das in den getrockneten Bohnen enthaltene, durch Chloroform ausziehbare Theobromin ist das Spaltungsprodukt eines Glycosides, welches durch verdünnte Säuren, sowie diastatische Fermente in Cacaorot, Dextrose, Coffein und Theobromin gespalten wird.

2. Der rote Farbstoff in den getrockneten Bohnen besteht aus einem Gemenge von Cacaorot und dem Glycoside.

3. Theobromin, Coffein, Dextrose und Cacaorot sind höchst wahrscheinlich in den unreifen und reifen frischen Bohnen zu einem Molekül, einem Glycoside vereinigt, das durch Einwirkung des Fermentes, wie oben angegeben, in seine Componenten gespalten wird.

4. In dem Cacaorot lassen sich durch Acetylierung des Glycosides zehn Hydoxylgruppen nachweisen und dürfte dem Cacaorot die Formel $C_{17}\ H_{12}\ (OH)_{10}$ zukommen.

5. Als Spaltungsprodukte des Cacaorotes beim Schmelzen mit ätzenden Alkalien traten auf: Ameisensäure, Essigsäure und Brenzcatechin, und dürfte es, da analoge Zersetzungsprodukte wie bei den Gerbstoffen auftreten, zu jener Klasse von Körpern zu rechnen sein.

6. In den frischen Bohnen war weder Theobromin noch Dextrose nachzuweisen, ein Beweis, dass also jene Körper neben Cacaorot bei der Gährung durch eine Spaltung des Glycosides auftreten.

Zum Schlusse möchte ich nochmals Gelegenheit nehmen, Herrn Hofrat Professor Dr. Hilger für die Überweisung dieser Arbeit sowie für dessen freundliche Unterstützung bei der Ausführung derselben den aufrichtigsten Dank auszusprechen.